612.822.5
611-018.62

2030

PROF. CAMILLO GOLGI

(13.)

# DI UN METODO

PER LA

## FACILE E PRONTA DIMOSTRAZIONE DELL' APPARATO RETICOLARE INTERNO

DELLE

## CELLULE NERVOSE

Dal Bollettino della Società Medico-Chirurgica di Pavia
Comunic. fatta nella seduta del 31 Gennaio 1908

LIBRARY

PAVIA
TIPOGRAFIA E LEG. COOPERATIVA
1908

PROF. CAMILLO GOLGI

13.

# DI UN METODO

PER LA

## FACILE E PRONTA DIMOSTRAZIONE DELL'APPARATO RETICOLARE INTERNO

DELLE

## CELLULE NERVOSE

Dal Bollettino della Società Medico-Chirurgica di Pavia
Comunic. fatta nella seduta del 31 Gennaio 1908

PAVIA
TIPOGRAFIA E LEG. COOPERATIVA
1908

PROF. CAMILLO GOLGI

# DI UN METODO PER LA FACILE E PRONTA DIMOSTRAZIONE DELL' APPARATO RETICOLARE INTERNO DELLE CELLULE NERVOSE

*(Con presentazione di preparati).*

La particolarità di struttura delle cellule nervose che io ho descritto col nome di " *apparato reticolare interno* „ non ha richiamato l' attenzione degli studiosi come, a mio giudizio, essa avrebbe meritato, sopratutto perchè, fino ad ora, è mancato un metodo per la sicura e pronta sua didimostrazione.

Malgrado talune conferme, ottenute anche con procedimenti di tecnica diversi dai miei, per molti l' apparato reticolare interno ha piuttosto il valore di un' ipotesi che quello di fatto anatomico dimostrato.

Altri, poi, non hanno esitato ad identificare quella caratteristica particolarità di struttura delle cellule nervose, con altre che coll' apparato da me descritto nulla hanno di comune! Ad esempio, Holmgreen ha voluto ravvisare una corrispondenza, anzi identità, tra l' apparato reticolare interno oggetto de' miei studi, ed i fatti, che, rispetto all' organizzazione delle cellule nervose (limax, lophius, mammiferi) egli ha descritto in una serie di successive pubblicazioni col nome di trofospongi.

Ancora più singolare è il fatto che lo stesso Ramon

y Cajal, il celebre autore di tanti e così importanti studi sul sistema nervoso in generale ed in particolare sulla struttura delle cellule nervose, in una recente pubblicazione (Trav. du Lab. de Rech. Biol. 1907) non si è peritato ad identificare l' apparato reticolare interno da me descritto coi trofospongi di Holmgreen, menzionando questi due reperti col titolo di " *Appareil reticulaire de Golgi-Holmgreen* „ ! , così come, pure in recente pubblicazione, lo stesso Ramon y Cajal e D. Sanchez, spingendo più oltre siffatte identificazioni, sono arrivati ad affermare la completa omologia fra la fine struttura reticolare descritta da Fusari e Veratti (Mem. Istituto Lombardo Vol. XIX. Fasc. 6°) e l'apparato reticolare interno delle cellule nervose : mentre gioverà ricordare che da Ramon y Cajal la stessa fine struttura del sarcoplasma, da lui primitivamente verificata negli insetti , era stata interpretata come un sistema di capillari tracheali.

A parte la nessuna corrispondenza delle descrizioni mie e di Holmgreen in ordine al tempo , giacchè i miei studi su questo argomento hanno una lunga precedenza su quelli dello scienziato di Stockholm ; a parte ancora l'interpretazione fondamentalmente diversa data da me circa il significato dell'apparato reticolare — sul quale punto, però, io mi sono tenuto sempre in grande riserbo — da quella data dall'illustratore dei trofospongi, credo basti dare uno sguardo alle figure mie ed a quelle di Holmgreen per escludere ogni possibilità di identificazione dei due reperti.

Altra conseguenza della lamentata mancanza di un metodo sicuro e di facile applicazione per mettere in luce " l'apparato reticolare interno „ è che, fino ad ora, questa fine particolarità di organizzazione, per quanto interessante e caratteristica, anche per quegli studiosi che ebbero modo di constatarne l' esistenza nella sua forma reale , quasi è

rimasta come un semplice oggetto di curiosità, rappresentando essa, pur davanti ai problemi relativi alla struttura intima normale delle cellule nervose, non altro che un nuovo punto interrogativo. Io stesso, rispetto alle possibili interpretazioni del fatto anatomico, mi sono presso a poco limitato alla dichiarazione che nessuna delle interpretazioni più ovvie (apparato canalicolare o di natura nervosa) poteva dirsi giustificata dai fatti sin qui dimostrati.

Anche più negative sono rimaste, per la stessa causa, le applicazioni del reperto normale alle conoscenze patologiche.

Mentre è ovvio il supporre che al fatto normale facciano riscontro altri fatti di ordine patologico, viceversa la conoscenza dell'apparato reticolare delle cellule nervose non ha potuto, fino ad ora, avere applicazioni per l'eventuale verifica di alterazioni patologiche di ordine sia sperimentale che anatomo-patologico.

Scopo di questa breve mia comunicazione è precisamente quello di far conoscere agli studiosi, che si interessano delle questioni riguardanti la fine struttura del sistema nervoso, un procedimento che da quasi un anno io applico e faccio applicare nel mio Laboratorio per la dimostrazione dell'apparato reticolare interno delle cellule nervose. Con tale procedimento, quella così caratteristica particolarità di struttura, non soltanto può, come ho detto, essere messa in evidenza in modo facile e pronto, ma la particolarità medesima è rivelata, al più con differenze di grado o di completezza, in quasi tutte le cellule gangliari del frammento di tessuto nervoso (particolarmente gangli intervertebrali) che da quel punto di vista si vuole fare oggetto di studio.

A questo punto, io non posso a meno di osservare che anche i varii procedimenti in precedenza da me applicati

e descritti per la dimostrazione dell' apparato reticolare interno, oggetto di una serie di successive mie note, valgono a far raggiungere con certezza quello scopo. Devo però io stesso rilevare che detti procedimenti richiedono una grande insistenza nel ripetere le prove destinate a sorprendere il momento più adatto per ottenere la delicata interna reazione alla quale è legata la più evidente dimostrazione dell' apparato reticolare endocellulare. Osservo di più che, pur adottando, nell'applicazione dei detti procedimenti, la più scrupolosa diligenza, difficilmente si ottiene che la reazione si svolga nel modo caratteristico in estesi gruppi di cellule nervose.

Il metodo sul quale ora, anche per desiderio di colleghi, richiamo l' attenzione, rimedia a tutta quella serie di inconvenienti ed offre quindi, a parte la nuova e palmare conferma del reperto normale, anche il modo di ottenere con facilità è su vasta scala preparati di confronto e controllo nei riguardi degli stati patologici, sia sperimentalmente provocati che di naturale ordine anatomo-patologico.

Posso senz'altro dichiarare che il metodo che m'accingo a descrivere non consiste che in una modificazione del noto metodo fotografico che da parte di Ramon y Cajal, prima, di molti altri osservatori, poi, ebbe a quest'ora così estese e feconde applicazioni allo studio del sistema nervoso.

Per effetto di tali modificazioni, la riduzione si svolge nettamente in modo elettivo sull' apparato reticolare rimanendo, di regola, completamente estranee alla riduzione le altre parti costitutive dell' elemento nervoso.

La modificazione del metodo fotografico in virtù della quale la riduzione del' argento si localizza sull' apparato reticolare, *essenzialmente* riguarda la fissazione dei pezzi e si riferisce così alla composizione del liquido fissatore, come alla durata del periodo di immersione nel fissatore.

Dicendo che la parte essenziale del procedimento riguarda la fissazione, naturalmente non ho voluto escludere l'uso consuetudinario di alcuni spedienti, che, pur essendo di secondaria importanza, tuttavia rappresentano piccole modificazioni rispetto al tipico e ormai ben conosciuto metodo fotografico. Siffatti spedienti valgono: sia a dar risalto alle altre particolarità di struttura delle cellule nervose ed a rendere più spiccate e meglio anatomicamente differenziate le immagini, sia a far ottenere preparati indefinitamente conservabili, sempre colla stessa chiarezza.

I varii momenti del processo si svolgono come segue:

I) — Per la fissazione, i migliori, più fini e più sicuri risultati li ho ottenuti con la seguente miscela: Formalina (soluz. al 20 %) gr. 30; soluzione satura di acido arsenioso purissimo (circa al 1 %) gr. 30; alcool a 96 gr. 30.

Nel liquido fissatore così composto, i piccoli pezzi vengono lasciati da 6 a 24 ore. I preparati migliori sono stati ottenuti dai pezzetti che erano rimasti nel fissatore per 6-8 ore. Prolungando, come ho detto, l'azione del fissatore fino a 12-14-20-24 ore, si possono ancora ottenere buone reazioni, notandosi però successive graduali modificazioni della reazione; sia riguardo al suo modo di estrinsecarsi nelle singole cellule, sia nei riguardi della diffusione della reazione dalle parti superficiali alle profonde, fino alla cessazione di ogni reazione elettiva o specifica sull'apparato reticolare.

II) — Dal fissatore i pezzi vengono passati in una soluzione all'1 % di nitrato d'argento. Circa la durata di questa seconda immersione vi ha larghezza: se dei risultati buoni si possono con sicurezza ottenere dopo 1-2-3 ore, è però certo che un'immersione prolungata, anche per parecchi giorni, nella soluzione di nitrato d'argento non impedisce che l'azione successiva dei così detti rivelatori fotografici dia risultati altrettanto buoni o poco diversi.

III) — Dopo la permanenza nella soluzione di nitrato d'argento, i pezzetti devono essere sottoposti (previa rapida lavatura in acqua distillata) all'azione del *rivelatore*. Non credo sia il caso di discutere intorno alla scelta di tale mezzo fotografico: io mi attengo, senza decise preferenze, ai rivelatori più usati nella comune tecnica foto-

grafica. (La formula di solito usata è la seguente: idrochinone gr. 20; solfito soda 5, formalina 50, acqua 1000).

L'azione del rivelatore è pronta: entro pochi minuti si ha la reazione nella parte superficiale dei pezzi, entro poche ore lo sviluppo può essere compiuto in tutto lo spessore dei pezzetti di tessuto.

IV) — Ottenuta la reazione provocata dal rivelatore, i pezzi, nuovamente lavati con acqua distillata, devono subire i ben noti passaggi in alcool pel progressivo indurimento che, trattandosi di piccoli pezzi, può ottenersi in modo rapido.

È superfluo ricordare le modalità da seguirsi a seconda che si vogliono portare i pezzi rapidamente, in modo sbrigativo, in condizione da poter essere sezionati attaccandoli, colla gomma, su un pezzo di midolla di sambuco, oppure si vogliono ottenere le sezioni dai pezzi inclusi in paraffina, meglio in celloidina.

V) — Viraggio delle sezioni mediante l'azione dell'oro. Le sezioni si immergono in liquido che si prepara estemporaneamente riunendo le due seguenti soluzioni: soluz. A. (Iposolfito gr. 30, Solfocianuro ammonico gr. 30, acqua gr. 1000); soluz. B. (Cloruro d'oro gr. 1, acqua gr. 100).

Le sezioni ottenute o dai pezzi attaccati alla midolla di sambuco o dai pezzi inclusi in paraffina o in celloidina, le une e le altre trattate come di consueto, devono essere lasciate esposte all'azione del bagno di viraggio — in vetro da orologio — per una serie di minuti non determinabile a priori verificandosi notevoli differenze nei diversi casi: la reazione deve essere sorvegliata, arrestandola quando le sezioni hanno assunto una spiccata tinta grigia.

VI) — Meritano di essere ben rilevate le operazioni successive, che, come ho detto, valgono a dare maggiore risalto, a rendere anatomicamente più dimostrative, meglio differenziando le varie parti del tessuto ed a dare ad esse la maggiore chiarezza e nettezza.

A questo importante scopo corrispondono gli spedienti di tecnica che io credo di dover menzionare col titolo di modificazioni del metodo fotografico proposte dal libero docente dottor Veratti.

Mi limito alla semplice enumerazione dei detti spedienti, essi sono:

a) — Lavatura ripetuta in acqua distillata;

b) — Rischiaramento col passaggio in una soluzione di permanganato di potassa gr. 0,50; acido solforico gr. 1; acqua dist. gr. 1000.

Anche questa operazione è da sorvegliarsi, perchè il rischiaramento non sia eccessivo.

c) — Lavatura rapida in soluzione all' 1 % di acido ossalico, prima, in acqua distillata, poi.

d) — colorazione con carmallume, e successiva lavatura.

e) — passaggio negli alcool per la montatura in balsamo.

I preparati che presento per la dimostrazione di quanto ho esposto, sono tutti di spettanza del distinto allievo interno del mio Laboratorio, il laureando signor Ferruccio Marcora e vennero da lui ottenuti applicando il metodo oggetto di questa nota.

All' esecuzione di questi preparati, destinati ad illustrare una particolarità di struttura del tutto normale, il signor Marcora si è accinto perchè essi potessero servire quali preparati di confronto o di controllo rispetto agli stati patologico-sperimentali, di ordine diverso, dei quali egli stà occupandosi.

---